



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för Kliniska vetenskaper

Karakterisering av hästar med Ekvint metabolt syndrom

Mimmi Törnqvist

*Uppsala
2016*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2016:34*

Karakterisering av hästar med Ekvint metabolt syndrom

Characterization of horses with Equine metabolic syndrome

Mimmi Törnqvist

Handledare: Johan Bröjer, institutionen för Kliniska vetenskaper

Ev. Biträdande handledare: Sanna Truelsen Lindåse, institutionen för Kliniska vetenskaper

Examinator: Miia Riihimäki, institutionen för Kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Delnummer i serie: Examensarbete 2016:34

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: EMS, Insulinresistens, fång, BCS, CNS, fetma, regional fettansättning

Key words: EMS, insulin resistance, laminitis, BCS, CNS, obesity, regional adiposity

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Ekvint metabolt syndrom (EMS) är en relativt nybeskriven sjukdom som kopplar ihop övervikt, insulinresistens och fång. Under 2010 fastställdes i en konsensus från American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) att fenotypbeskrivningen av hästar med EMS innefattar generell övervikt och/eller ökad regional fettansättning, insulinresistens och en predisposition för fång. Hästarna är vanligtvis medelålders hästar och en viss raspre disposition finns. Fenotypen av EMS hästar har dock ifrågasatts på senare tid varför behovet av en ny karakterisering av hästar med sjukdomen är stort. Utan möjlighet att tidigt kliniskt identifiera dessa hästar utifrån tydliga markörer går det inte att förhindra utvecklingen av fång. Studien syftade till att studera olika parametrar för insulinkänslighet, hull och tidigare anfall av fång hos 20 hästar med diagnosen EMS. Mer kunskap om dessa hästar är viktig för att fastställa patogenesen för EMS och fång och därigenom kunna förebygga sjukdomsutvecklingen.

För att inkluderas i studien krävdes att hästarna hade diagnostiserats som insulinresistenta genom ett oralt glukostoleranstest (OGT) i fält. Samtliga 20 hästar genomgick sedan ytterligare ett OGT, en euglykemisk hyperinsulinemisk clamp (EHC) samt en hullbedömning med avseende på generellt hull (*body condition score*, BCS) och mankammens storlek (*cresty neck score*, CNS). Historik om tidigare fång samlades in från djurägarna.

Hullbedömningen i studien visade att en stor andel av hästarna inte var feta. Mankammens storlek var dock förstörad hos en majoritet av hästarna. Studien talar därför för att mankammens storlek är en viktigare fenotypisk markör än hästarnas generella hull för sjukdomen. Författaren föreslår därför att mer tyngd bör läggas på den förstörade mankammen i fenotypbeskrivningar av hästarna, som drabbats av detta sjukdomskomplex.

Genom OGT kunde hästarnas insulin och glukossvar studeras efter en oral giva av glukossirap. Med hjälp av EHC kunde insulinkänsligheten kvantifieras. Tillsammans med hullbedömningarna kunde hästarna karakteriseras och samband mellan de olika parametrarna studeras.

Ytterligare studier krävs för att uppdatera fenotypbeskrivningen av hästar med EMS, samt för att fastställa när och varför hästar med anlag för EMS utvecklar kliniska symptom. Vidare studier krävs även för att undersöka optimal behandling och skötsel för dessa hästar.

SUMMARY

Equine metabolic syndrome (EMS) is a relatively recently discovered disease that links obesity, insulin resistance and laminitis together. In a consensus report by the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) from 2010, the EMS phenotype was described with general obesity and/or regional adiposity, insulin resistance and a predisposition towards laminitis. Horses with the condition are often middle-aged and some breeds appear to be predisposed to the disease. This description of horses with EMS has recently been questioned and an update of the phenotype is therefore needed. Without the possibility to identify horses with EMS at an early stage it is not possible to prevent them from developing laminitis.

This study evaluated different parameters such as insulin sensitivity, body condition and previous episodes of laminitis in 20 horses with a diagnosis of EMS. All horses in the study were previously diagnosed as insulin resistant with an oral glucose tolerance test (OGT) by the referring veterinarian. The horses underwent a new OGT, a euglycemic hyperinsulinemic clamp (EHC) and a scoring of their neck (cresty neck score, CNS) and body condition (body condition score, BCS). Owners were interviewed about previous episodes of laminitis.

Body condition scoring was unable to identify the majority of the horses as fat. However, the neck was enlarged in most of the horses. The study therefore suggests that enlargement of the neck is a better indicator for the disease than obesity and that the description of the phenotype should be updated.

The horses' insulinaemic and glycaemic responses were studied with the OGT after an oral administration of sugar syrup. Their insulin sensitivity was quantified with the EHC. Together with the results of the body condition scoring and the cresty neck scoring, a characterization of the horses was made and associations between the different parameters were studied.

More studies are needed to update the phenotype description of horses affected by this condition. An important question to answer is when and why horses with genetic predisposition develop clinical signs of EMS. Treatment and management of these horses are also important subjects for future studies.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Inledning.....	1
Syfte	1
Litteraturoversikt.....	1
Ekvint metabolt syndrom	1
Insulinresistens och EMS	3
Fång och EMS	3
Material och metoder	5
Hästarna.....	5
Hullbedömning.....	6
Body condition score.....	6
Cresty neck score	6
Studiedesign	6
Oralt glukostoleranstest.....	7
Euglykemisk hyperglykemisk clamp – EHC	7
Blodanalyser.....	8
Statistiska analyser och beräkningar	8
Resultat.....	10
Hästarna.....	10
Hullbedömningar.....	11
OGT.....	11
EHC.....	13
Korrelation mellan resultat från EHC och OGT	15
Multivariabla regressionsanalyser.....	16
Diskussion	17
Konklusion	20
Referenser.....	21

INLEDNING

Övervikt och insulinresistens ingår i sjukdomskomplexet Ekvint Metabolt syndrom (EMS), som är en viktig sjukdom då drabbade hästar är predisponerade för att utveckla fång. Eftersom EMS är en relativ nybeskriven sjukdom så är kunskapen om sjukdomskomplexet i dagsläget begränsad. Mer forskning behövs för att förstå och beskriva sjukdomen och dess koppling till övervikt, fång och insulinresistens.

SYFTE

Syftet med studien är att karakterisera hästar med EMS med avseende på olika parametrar för insulinkänslighet, hull och tidigare anfall av fång. Syftet är också att studera om associationer föreligger mellan de studerade parametrarna, med målet att öka kunskapen om sjukdomens patogenes. Ökad kunskap om EMS kommer i framtiden ge oss möjlighet att tidigt i sjukdomsförloppet identifiera drabbade individer och därigenom förebygga utvecklande av fång.

LITTERATURÖVERSIKT

Ekvint metabolt syndrom

Veterinärer har under lång tid misstänkt en koppling mellan fång och övervikt, men det var inte förrän 2002 som begreppet ekvint metabolt syndrom började användas (Johnsson, 2002).

Med tanke på insulinresistensens viktiga roll inom EMS, klassificeras syndromet som en endokrin sjukdom (Frank, 2010).

Under 2010 publicerade American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) en konsensus om EMS, som fastställer att fenotypen för de flesta hästarna som lider av EMS innefattar ökad regional fettansättning eller generell övervikt, insulinresistens och en predisposition för fång utan annan fastställd orsak (Frank *et al.*, 2010). Ägare till drabbade hästar upplever dem ofta som lättfödda och beskriver problem med hästarnas övervikt trots normal fodergiva (Johnson, 2002, Frank *et al.*, 2010, Frank, 2011).

EMS drabbar framförallt unga till medelålders hästar och ponnyer (Frank, 2010). Johnson (2002) ansåg att de drabbade hästarna tenderade att vara mellan 8 och 18 år. En viss raspre disposition har beskrivits: bland annat tycks olika ponnyraser (Johnson, 2002, Frank, 2009) såsom welsh-, dartmoor- och shetlandspannyer (Frank *et al.*, 2010), morganhästar, spansk mustang (Johnson, 2002, Frank *et al.*, 2010), quarterhästar (Frank, 2009, Frank, 2010) samt arabiska fullblod (Frank, 2009, Frank *et al.*, 2010) med flera vara överrepresenterade. Det är möjligt att just hästar och ponnyer, som under evolutionen utvecklats till att klara av mycket tuffa miljöer med begränsad tillgång till mat är de som lättare utvecklar insulinresistens och övervikt i domesticerat tillstånd (Frank *et al.*, 2010, Frank, 2010). Det finns därför misstankar om att inte bara hästens miljö och utfodring spelar roll i utvecklingen av EMS (Johnson, 2002),

utan att det även finns en viss genetisk bakgrund (Johnson, 2002, Treiber *et al.*, 2006b, Frank, 2010). Ingen könspre disposition har hittats för EMS (Johnson, 2002) eller för fång med endokrinologisk bakgrund där både EMS och PPID (pars intermedia dysfunktion) innefattades (Karikoski *et al.*, 2011).

Behandling av hästar med EMS är idag fokuserad på utfodring och fysisk aktivitet. Med hjälp av veterinärt utformade motions- och utfodringsscheman kan hästar med EMS gå ner i vikt, och förbättra sin insulinkänslighet på hemmaplan (Morgan *et al.*, 2015b). Ett balanserat grovfoder med en låg andel lösliga kolhydrater (WSC, *water soluble carbohydrates*) är rekommenderat samtidigt som alla typer av stärkelsesrika kraftfoder ska undvikas (Johnson, 2002, Morgan *et al.*, 2015a, Frank *et al.*, 2010). Inte förrän både övervikten och insulinresistensen har förbättrats avsevärt kan det igen bli aktuellt med tillgång till gräs på bete (Frank *et al.*, 2010).

WSC halten i grovfoder kan i dagsläget analyseras kommersiellt i Sverige, och kan därför användas vid val av grovfoder. Internationellt används istället NSC halten (*non structural carbohydrates*), det vill säga halten icke strukturella kolhydrater, som innefattar både WSC och stärkelse. Vid utfodring av hästar med EMS bör halten NSC ligga på under 10 % av torrsubstansen (Frank *et al.*, 2010, Frank, 2011). I Sverige rekommenderas även halten WSC att ligga under 10 % av torrsubstansen (S. Lindåse, SLU, personligt meddelande, 15 oktober 2015).

För att minska mängden WSC har tidigare rekommendationer varit att blötlägga fodret med olika tidsintervall. En ny studie visade dock att mängden WSC i både ensilage och hösilage (utan blötläggning) var mindre än i blötlagt hö i 12 timmar. Ur ett skötselperspektiv är det därför lättare att konservera fodret som hösilage eller ensilage än att lagra hö för att sedan blötlägga det (Müller *et al.*, 2015a). Att blötlägga foder kan dessutom minska fodrets hygieniska kvalitet (Müller *et al.*, 2015b). En annan tidigare rekommendation är att utfodra hästar med fångproblematik med ett hö från förra årets skörd. I en nyare studie visades dock att konserveringstiden hade liten påverkan på WSC i hö, hösilage och ensilage med en konservering med upp till 18 månader (Müller *et al.*, 2015a).

I en konsensus om EMS från ACVIM (Frank *et al.*, 2010) rekommenderas den överviktiga hästen att bantas genom en restriktiv mängd grovfoder. De föreslår att hästen ska få mängden hö som motsvarar 1,5 % av hästens idealvikt, vilket motsvarar 7,5 kg för en 500 kgs häst (Frank, 2011). Författarna beskriver att det är möjligt att gå ner ytterligare i fodermängd till en mängd hö motsvarande 1 % av kroppsvikten om hästen inte går ner i vikt på 30 dagar. (Frank *et al.*, 2010). Då det finns en risk att hästarna utvecklar stereotypier eller förvärrar sin insulinresistens beskriver författaren att mängden hö aldrig bör gå under motsvarande 1 % av kroppsvikten (Frank *et al.*, 2010). I Sverige rekommenderas djurägare att analysera grovfodret och beräkna underhållsbehovet till den individuella hästen. Forskare på SLU rekommenderar en utfodring med 75-80 % av hästens underhållsbehov för att uppnå viktreduktion, utan att fodermängden understiger 1 kg torrsubstans per 100 kg kroppsvikt (S. Lindåse samt J. Bröjer, SLU, personligt meddelande, 15 oktober 2015). I Sverige används flertal fodertyper med olika torrsubstanshalter, varför man bör ta hänsyn till detta i sin beräkning av fodermängd. Inga

hälsorisker har konstaterats genom att begränsa torrsubstansmängden till motsvarande 1 % av hästens kroppsvikt (Dugdale *et al.*, 2010).

Med fysisk aktivitet kan insulinkänsligheten förbättras, varför det är en viktig del i behandlingen av överviktiga hästar med EMS (Freestone 1992, Frank *et al.*, 2010, Morgan *et al.*, 2015a). Hänsyn ska tas till om hästen lider av aktiv fång, där motion både kan vara smärtsamt samt direkt olämpligt. Hästen bör både vara smärtfri samt ha tillräckligt god hovstatus innan motion påbörjas (Morgan *et al.*, 2015a). En successiv ökning av motionen är av stor vikt för samtliga hästar. Frank (2011) rekommenderar trav och/eller galoppmotion i minst 30 minuter 4 till 7 dagar i veckan.

Insulinresistens och EMS

Insulin är ett viktigt anabolt hormon, som har en central roll i glukos-, aminosyre- och fettmetabolismen. Då blodglukos ökar, till exempel efter utfodring, stimuleras sekretionen av insulin från bukspottkörteln. Insulin stimulerar sedan upptaget av glukos i insulinkänslig vävnad, stimulerar bildning av glykogen och hämmar glukoneogenesen. Upptaget av glukos i cellerna i bland annat skelettmuskulatur och fettväv sker via en specifik glukostransportmolekyl, GLUT-4, som är insulinberoende (Sjaastad *et al.*, 2003).

Vid insulinresistens har den normalt insulinkänsliga vävnaden förlorat sin förmåga att på ett adekvat sätt svara på insulin. Insulinresistens kan delas upp i två olika stadier, kompenserad- och icke-kompenserad insulinresistens (Morgan *et al.*, 2015a, Frank, 2010). Vid kompenserad insulinresistens kan bukspottkörteln genom ökad sekretion av insulin, kompensera för den minskade insulinkänsligheten i vävnaden. Hyperinsulinemi (förhöjd koncentration av insulin i blodet) kommer därför uppstå, vilket leder till ökad stimuli av insulinreceptorerna på cellerna i den insulinberoende vävnaden, som då förmår att ta upp glukos varför normala nivåer av glukos kommer att detekteras i blodet. Hyperinsulinemin kan också uppstå på grund av en minskad clearance av insulin genom minskad nedbrytning i levern. Icke-kompenserad insulinresistens uppstår då bukspottkörteln inte längre klarar av att producera tillräckligt med insulin, varför hyperglykemi (förhöjd koncentration av glukos) kan detekteras i blodet. Denna typ av insulinresistens ses sällan hos hästar och ponnyer; den mest förekommande insulinresistensen är den kompenserade (Frank, 2010).

Fång och EMS

Även om begreppet EMS inte föddes förrän under 2000-talet, har det länge varit känt att insulinresistens är en viktig faktor i utvecklingen av fång. Redan 1983 började sambandet mellan insulinresistens och fång studeras av Coffman och Colles. Författarna kunde i en studie konstatera att ponnyer med tidigare historik av fång hade lägre insulinkänslighet än friska ponnyer. Tre år senare kunde även Jeffcott och Field (1986) genom glukos- och insulintoleranstester visa en ökad insulinresistens hos ponnyer med fetma och/eller fånghistorik jämfört med friska ponnyer/hästar. Flertal studier har sedan dess visat på starka kopplingar mellan fång och insulinresistens (Bailey *et al.*, 2008, Treiber *et al.*, 2006a, Treiber *et al.*, 2006b) samt mellan fång, övervikt och insulinresistens (Treiber *et al.*, 2006a). I en studie av Treiber *et*

al. (2006a) konstaterades det att ponnyer som är predisponerade för betesrelaterad fång utmärker sig från friska ponnyer med avseende på olika metabola faktorer såsom insulinresistens, hyperinsulinemi och övervikt, och att man utifrån detta kan förutspå vilka av ponnyerna som kommer få fång under sommarmånaderna på bete. Även Carter et al. (2009a), har gjort en liknande studie och konstaterat möjligheten att förutspå vilka hästar som får fång baserat på bland annat insulinnivåer, BCS (*body condition score*) och CNS (*cresty neck score*). Resultaten från dessa artiklar talar för att det är möjligt att hindra utvecklingen av fång genom olika skötsel- och utfodringsförändringar av ponnyer, som tidigare blivit identifierade som riskindivider.

Det har även bevisats att höga nivåer insulin kan orsaka fång hos friska ponnyer. Detta visade Asplin et al. (2007) i deras studie där samtliga ponnyer, som varken var insulinresistenta eller hade en tidigare fånghistorik, fick fång inom 72 timmar av inducerad hyperinsulinemi trots normalt bibehållna glukosnivåer. Samtliga ponnyer visade symptom på fång av Obelgrad 2 innan de avlivades. Vid histopatologisk undersökning av hovarna kunde histologiska tecken på fång ses i hovarna. Hyperinsulinemi verkar därför vara en viktig faktor i fångens patofysiologi.

I en nyare studie av Karikoski et al. (2011) kunde författarna konstatera att av 36 hästar med fång hade 89 % en bakomliggande endokrin sjukdom. Av dessa hade två tredjedelar (21 hästar) höga basala fasteinsulinnivåer i blodet, som indikerar insulinresistens, och de hade inga tecken eller historik på hirsutism (använd som indikator för PPID). Av de 21 hästarna var 20 hästar överviktiga, 16 av hästarna hade en CNS på ≥ 3 och 18 av hästarna hade fångränder. Då endast hästar med hirsutism provtogs för PPID och då endast fastebloodprover av insulin togs så har studien sina begränsningar. Studien är dock intressant då den visar att det föreligger tydliga kopplingar mellan fång och fenotypen för EMS med övervikt, fettansättning i mankammen och en historik på fång.

Trots mer än 30 år av forskning har inte patofysiologin som förklarar hur insulinresistens ger fång klarlagts, trots att flera teorier förslagits. Då fång anses som en multifaktoriell sjukdom är det sannolikt att flera olika patofysiologier är möjliga. Allt mer tyder på att endokrina sjukdomar, såsom EMS och PPID, har en betydande del i utvecklingen av fång varför vikt bör läggas på att förstå och undvika dessa sjukdomar.

MATERIAL OCH METODER

Hästarna

I studien deltog 20 hästar, samtliga privatägda och sedan tidigare diagnosticerade med EMS i fält med hjälp av ett oralt glukostolerans test (OGT_{fält}) (Lindåse *et al.*, 2015). Hästarna i studien var av raserna halvblod, islandshäst, welsh cob, korsningshäst, korsningsponny, svensk ridponny, fjordhäst, minishetlandsponny och highlandponny (tabell 1). Femton ston och 5 valacker deltog i studien. Ålder på hästarna var mellan 5 och 22 år med en medelålder på 13,9 ± 4,6 år. Sexton hästar hade tidigare haft fång.

Tabell 1. Patientdata från studiens hästar (n=20). Tabellen beskriver hästarnas ras, kön och ålder

Ras	Kön	Ålder
Halvblod	Sto	18
Islandshäst	Sto	14
Islandshäst	Sto	14
Welsh cob	Valack	15
Korsningshäst	Valack	12
Islandshäst	Sto	9
Islandshäst	Sto	14
Svensk Ridponny	Sto	15
Fjordhäst	Valack	8
Minishetlandsponny	Valack	12
Fjordhäst	Sto	18
Islandshäst	Valack	22
Highlandponny	Sto	13
Islandshäst	Sto	22
Islandshäst	Sto	9
Islandshäst	Sto	15
Korsningsponny	Sto	19
Islandshäst	Sto	15
Islandshäst	Sto	5
Minishetlandsponny	Sto	8

Hullbedömning

Body condition score

Hästarna hullbedömdes med hjälp av BCS utvecklat av Henneke et al. 1983. *Body condition score* är en hullbedömningsskala på 1 till 9 där 1 representerar en mycket utmärglad häst och 9 en mycket fet häst. Genom att palpera och visuellt bedöma 6 olika områden på hästen såsom fettdepåer över revbenen, vid svansroten och bakom bogbladet kan man därefter klassificera in hästen i skalan (Henneke *et al.*, 1983).

Cresty neck score

Den lokala fettansättningen i mankammen uppskattades enligt CNS utvecklat av Carter et al. 2009 (b). Bedömningen av denna lokala fettansättning görs på en skala från 0 till 5, genom visuell bedömning och palpation av nacken. Noll representerar ingen synlig eller palperbar fettansättning i mankammen och 5 representerar kraftig fettansättning i mankammen, som ofta hänger över åt ena sidan av halsen. Enligt Frank (2011) har hästar med EMS ofta ett CNS på ≥ 3 , vilket representerar en förstorad och förtjockad mankam (Carter *et al.*, 2009b).

Studiedesign

Försöket är godkänt av Uppsala djurförsöksetiska nämnd med diarienummer C19/14 och är en del av ett doktorandprojekt om EMS. Samtliga hästar är sedan innan diagnosticerade med EMS i fält genom ett OGT (Lindåse *et al.*, 2015). Inklusionskriterierna för att få medverka i studien var att ha en insulinpeak på > 900 ng/L under OGT utförd i fält (vid provtagning 60 till 90 minuter efter start), en klinisk undersökning och rörelsekontroll utan anmärkning för att utesluta pågående fång eller annan klinisk sjukdom, normalt ACTH för att utesluta PPID samt att hästarna stod på en grovfodersbaserad foderstat. Urvalet skedde bland blodprover från OGT utförda i fält och remitterade till Klinisk kemi vid SLU för analys. Förfrågan om medverkan i studien skickades till djurägare vars djur motsvarade inklusionskriterierna.

Försöken pågick under 2015. Samtliga hästar undersöktes under fyra dagar vid Universitetsdjursjukhuset, SLU. Undersökningarna bestod av 3 delar: OGT, samt hullbedömning utförd av veterinär. Data samlades även in både från OGT utförd i fält (från Klinisk kemi, SLU) samt över patientens fånghistorik (från djurägaren).

Dag 1 och 2 var vilodagar på box för hästarna för att möjliggöra acklimatisering till miljön. Hästarna utfodrades med medhavt foder i samma mängd samt vid samma tidpunkter, som i deras hemmamiljö. Dag 3 utfördes OGT och dag 4 utfördes EHC samt hullbedömning.

Oralt glukostoleranstest

Kvällen innan OGT anlades en permanentkanyl (Intranule, 2.0 x 105mm. Vygon, Ecoen, Frankrike) i ena jugularvenen efter rakning, steriltvätt och lokalbedövning med EMLA (AstraZenica AB, Södertälje, Sverige). Patienthästen svältes över natten under 12 timmar, dock med fri tillgång till vatten.

Nollblodprov togs 5 minuter innan administrering av en oral giva glukossirap (Dansukker glykossirap, Nordic Sugar A/S, Köpenhamn, Danmark) motsvarande 0,2 ml/kg kroppsvikt (Lindåse *et al.*, 2015). Glukossirapen administrerades per oralt med hjälp av 60 ml sprutor. Blod aspirerades från permanentkatetern var 30:e minut under 180 minuter. Blodet överfördes till rör (Vacuette 9ml, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österrike) med litiumheparin som antikoagulantia. Varje blodprovstagning föregicks av att 5 ml blod aspirerades från permanentkatetern och kastades. Efter blodprovstagningen spolades permanentkatetern med 10 ml 0,9 % steril fysiologisk koksaltlösning. Blodproverna centrifugerades under 10 min (2700 x g), plasman överfördes till eppendorfrör och frystes i -80°C. Proverna analyserades senare med avseende på plasmaglukos och plasmainsulin.

Euglykemisk hyperglykemisk clamp – EHC

Dag 3 anlades en extra permanentkateter permanentkanyl (Intranule, 2.0 x 105mm. Vygon, Ecoen, Frankrike) i den andra jugularvenen, för att ha två tillgängliga permanentkatetrar.

En EHC utfördes under 3 timmar dag 4 för samtliga hästar med samma upplägg som i studien av Firshman *et al.* (2008). Tillförsel av insulin (Humulin Regular, Eli Lilly Sweden AB, Solna, Sverige) och glukos (Glucose Fresenius Kabi 500 mg/ml, Fresenius Kabi AB, Uppsala, Sverige) skedde med hjälp av en flerkanals volymetrisk infusionspump (Colleague, Volumetric infusion pump, Baxter Healthcare SA, Zürich, Schweiz) via den ena permanentkatetern. Ur den andra permanentkatetern aspirerades blodprover var 5:e minut, efter att 5 ml blod aspirerats och kastats. Katetern spolades sedan med 10 ml 0,9 % steril fysiologisk koksaltlösning.

Tillförseln av insulin var kontinuerlig med doseringen 3 mU/kg/min. Blodglukos mättes med hjälp av två snabbglukometrar (Accu-Check Aviva, Roche Diagnostics Scandinavia AB, Bromma, Sverige) var 5:e minut. Detta möjliggjorde att justera infusionshastigheten av glukos med målet att bibehålla blodglukosnivån på 5,0 mmol/L (normoglykemi) under EHC. Efter en timmes inställningsfas stabiliserar hyperinsulinemin med hjälp av det exogent tillförda insulinet samtidigt som den tillförda mängden glukos upprätthålls i ett euglykemiskt *steady state*. Den tillförda mängden glukos motsvarar då mängden upptaget metaboliserat glukos varför det kan användas för att kvantifiera insulinkänslighet (DeFronzo *et al.*, 1979).

Blodprover för senare analys av plasmainsulin och plasmaglukos togs via den ena permanentkatetern var 10:e minut för glukos respektive var 20:e minut för insulin. Blodet överfördes till litiumheparinrör, som lades på is direkt efter provtagning. Centrifugering skedde sedan i 4°C under 10 minuter i 906 G. Plasman överfördes med pipettering till eppendorfrör och frystes därefter i -80°C.

Blodanalyser

Plasmaglukos vid både OGT och EHC analyserades med dubbelprov vid Kliniska vetenskaper, SLU med hjälp av YSI 2300 (YSI 2300 Stat Plus Analyzer, YSI Incorporated, Yellow Spring, Ohio). Endogent plasmainsulin från OGT analyserades med dubbelprov med hjälp av en häst-specifik ELISA (Mercodia Equine Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sverige). Plasmainsulin från EHC analyserades med en human ELISA (Mercodia Insulin ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sverige) då det exogent tillförda insulinet är humant. Som kontroll användes ett kommersiellt kit (Mercodia Diabetes Antigen Control (Low,High) Human, Mercodia AB, Uppsala, Sverige).

Statistiska analyser och beräkningar

Normalhull klassificerades som BCS 4,5 – 5,5, lindrig övervikt som BCS 6 – 6,5 och fet klassificerades som $BCS \geq 7$ Normal mankam definierades som $CNS \leq 2,5$ medan ≥ 3 definierades som förstorad mankam. Utifrån insulinpeakvärdet från OGT klassificerades hästarnas som insulinkänsliga (insulinpeak < 400 ng/l), intermediärt insulinresistenta (insulinpeak 400 – 700 ng/l) eller som insulinresistenta (> 700 ng/l). Dessa gränsvärden togs fram i ett tidigare examensarbete av Moa Berggren (2014) inom samma doktorandsprojekt, anpassat efter referensvärden från Schuver et al. (2013).

Insulinpeakvärdet, tid till insulinpeakvärdet, area under kurvan för insulin (AUC_{ins}) samt area under kurvan för glukos (AUC_{glu}) beräknades från insulin och glukos data från OGT utförd i det kliniska försöket. Insulinpeakvärdet anger det högst uppnådda insulinvärdet under OGT. Insulin- och glukosresponsen under OGT uttrycktes som AUC (area under kurvan) och räknades ut med hjälp av trapezoidmetoden (GraphPad Prism. Version 6,0 för windows, GraphPad Software Inc, San Diego, Kalifornien).

Insulinkänsligheten beräknades genom två olika mått: M-värdet och M/I kvoten (DeFronzo *et al.*, 1979). M-värdet, det vill säga det metaboliserat glukos, uppmättes under EHC. Ett mer exakt mått på insulinkänsligheten är istället M/I kvoten, metaboliserat glukos per insulinenhet, som tar hänsyn till insulinkoncentrationen vid *steady state*. Då man dessutom är intresserad av insulinets nedbrytning och utsöndring beräknas MCR, metabolic clearance rate av insulin.

Följande ekvationer har använts, anpassade efter DeFronzo et al. (1979):

M värdet:

$$M \text{ (mg/kg/min)} = \text{infusionshastigheten av glukos} - \text{space correction}$$

Under en EHC eftersträvar man att plasmaglukoskoncentrationen bibehålls på samma nivå under hela *steady state*. Detta är dock inte praktiskt möjligt, varför en viss mängd glukos kommer tillföras eller förloras från distributionsvolymen av glukos. *Space correction* korrigerar för denna fluktuation i plasmaglukoskoncentration och beräknas enligt följande ekvation:

$$\text{Space correction (mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = (G1 - G2) \times 0,019$$

G1: blodglukoskoncentrationen vid föregående prov. G2: blodglukoskoncentrationen vid efterföljande prov.

M/I kvot:

$$\text{M/I kvot (} [\text{mg/kg/min} \times 10^3] / [\text{mU/l}] \text{)} = \frac{\text{Metaboliserat glukos}}{\text{Insulinenhet}}$$

MCR:

$$\text{MCR (ml/kg/min)} = \frac{\text{infusionshastighet av insulin}}{\text{ökning av plasmainsulinkoncentration över basalnivå}}$$

Referensvärden för M värden fastställdes i denna studie enligt Berggren (2014). Värden över 4 mg/kg/min klassificerade hästen som insulinkänslig. Värden mellan 2 till 4 mg/kg/min definierade hästen som intermediärt insulinresistent och om hästen hade ett M värde under 2 mg/kg/min ansågs hästen vara insulinresistent.

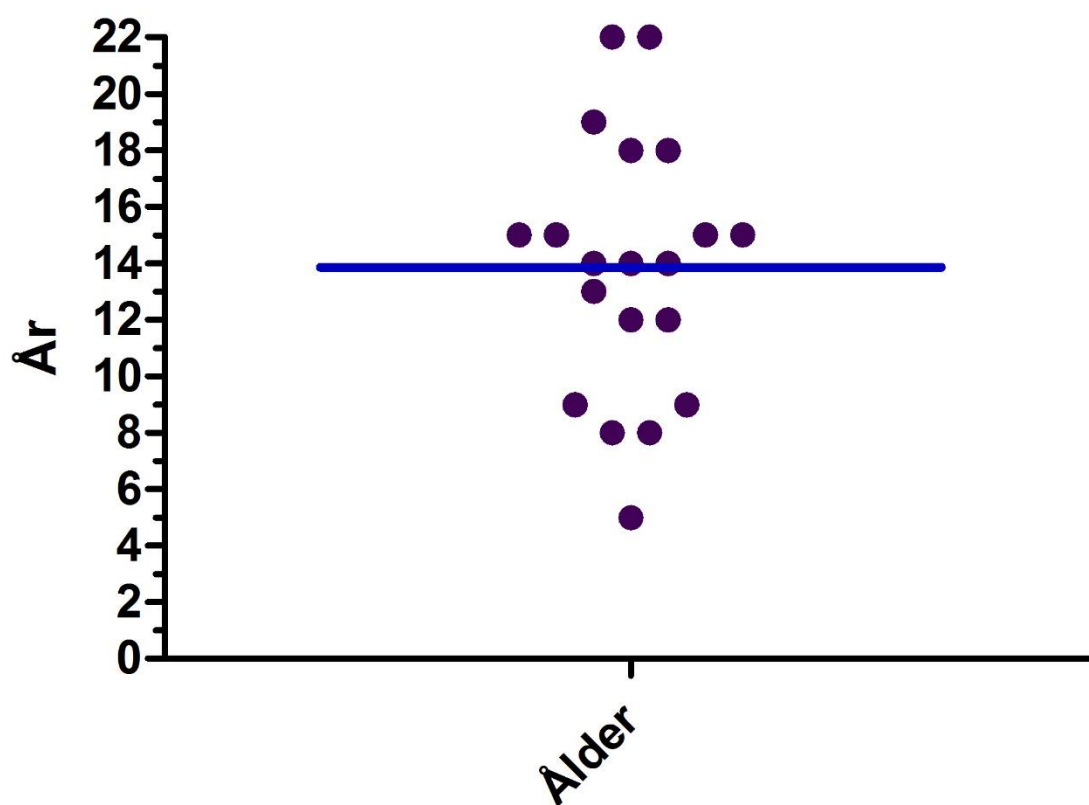
Programmet JMP® Pro 11.0.0. (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) användes för samtliga statistiska analyser. Association mellan variablerna CNS och BCS, BCS och M/I kvoten, CNS och M/I kvoten samt M-värdet och M/I värdet undersöktes med linjär regression. Icke linjär regression användes för att studera associationer mellan insulinpeakvärdet vid OGT och M/I –kvoten samt MCR och M/I-kvoten. Stegvis multivariat regressionsanalys användes för att studera sambandet mellan M/I kvoten och variablerna AUC_{ins}, BCS, CNS, kön, ålder, MCR och ras uppdelat i tre kategorier (ponny, islandshäst, häst). Analysen startade med

samtliga variabler varefter variabler med $p > 0,05$ exkluderades från modellen tills modellen enbart innehöll parametrar med $p < 0,05$. Resultat i studien redovisas med medelvärde \pm standardavvikelse. Om data inte är normalfördelade redovisas de med median (undre och övre kvartil). $P < 0,05$ användes som gränsvärde för att bestämma statistisk signifikans.

RESULTAT

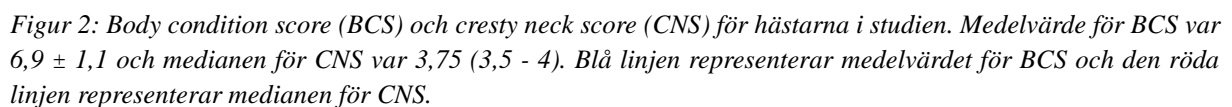
Hästarna

Samtliga 20 hästar uppfyllde inklusionskriterierna. Hästarna var mellan 5 och 22 år med ett medelvärde på $13,9 \pm 4,6$ år (figur 1). Av 20 hästar hade 16 tidigare haft fång. Arton av hästarna var av ponnyras och endast två av hästras. Femton av hästarna var ston och 5 var valacker (tabell 1).



Figur 1: Åldersfördelning mellan hästarna. Medelvärdet var $13,9 \pm 4,6$ år och representeras av den blå linjen.

Hästarna genomgick hullbedömningar i avseende på BCS och CNS av en och samma veterinär under hela försökets gång. Samtliga hästar i försöket hade en BCS på $\geq 5,5$ med ett medel BCS på $6,9 \pm 1,1$. Fyra hästar i studien hade normalhull, 6 hästar hade lindrig övervikt och 10 hästar betraktades som feta. Alla hästar i studien hade även ett CNS $\geq 2,5$ med en median på 3,75 (3,5 – 4). Sjutton hästar en förstorad mankam och 3 hästar en normal mankam (figur 2).

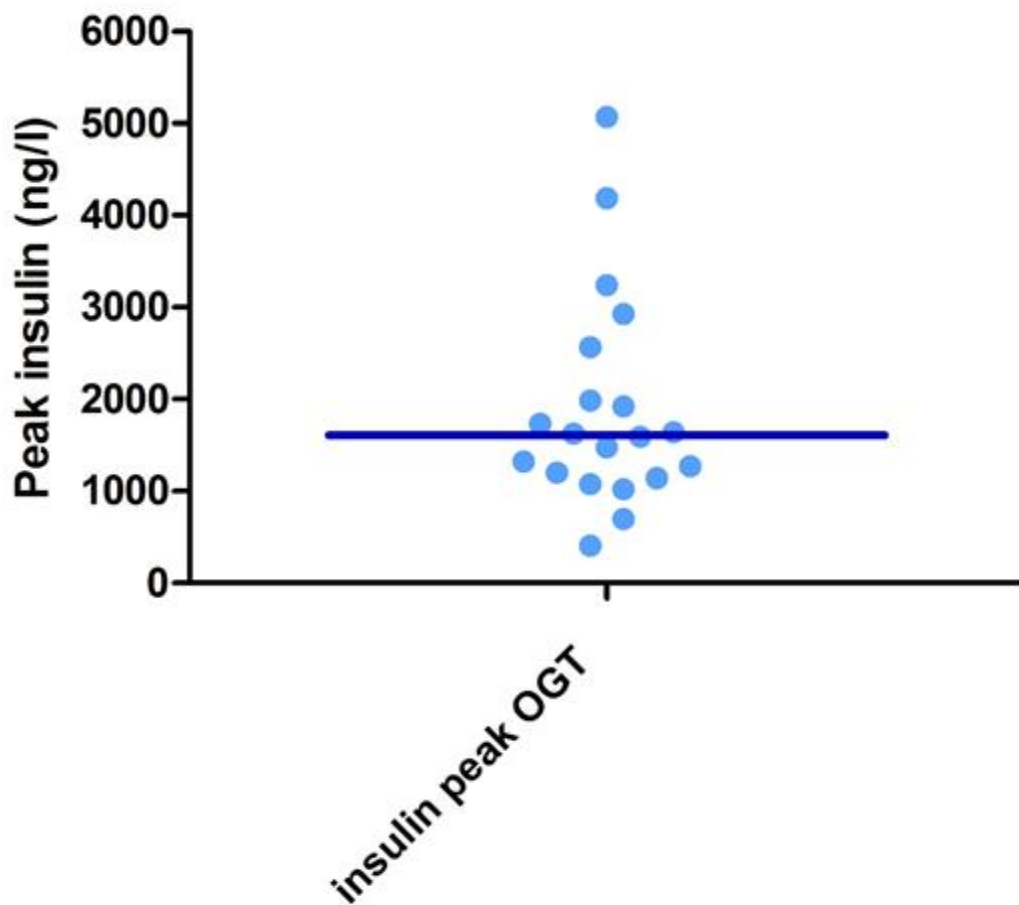


OGT

11

plasmainsulinkoncentrationer >3000 ng/l har en insulinkoncentration som ligger utanför metodens mätintervall och dessa prover har inte späts ytterligare och analyserats om för att få ett exakt värde på insulinkoncentrationen. Samtliga av dessa hästar klassificerades som insulinresistenta hästar, då deras insulinpeakvärden var över 700 ng/l.

Under OGT i det kliniska försöket hade hästarna ett insulinpeakvärde mellan 405 ng/l och 5070 ng/l. Medianen för insulinpeakvärden var 1608 (1158 – 2420) ng/l. Sex hästar nådde sin insulinpeak efter 60 minuter, 8 hästar efter 90 minuter, 5 hästar vid 120 minuter och en häst vid 150 minuter (figur 3).



Figur 3: Insulinpeakvärden under OGT i det kliniska försöket. Medianen för insulinpeakvärdet var 1608 ng/l (1158-2420) och representeras av den blå linjen.

Under det kliniska försöket hade häst C ett insulinpeakvärde på 405 ng/l och häst N ett insulinpeakvärde på 699 ng/l (tabell 2). Dessa värden faller under referensvärdet (< 700 ng/L) för att hästen ska klassificeras som ”insulinresistent. Med insulinpeakvärdet från OGT vid det kliniska försöket klassificeras därför två av hästarna som intermediärt insulinresistenta till skillnad från resultaten från OGT_{fält} där hästarnas klassificerades som insulinresistenta.

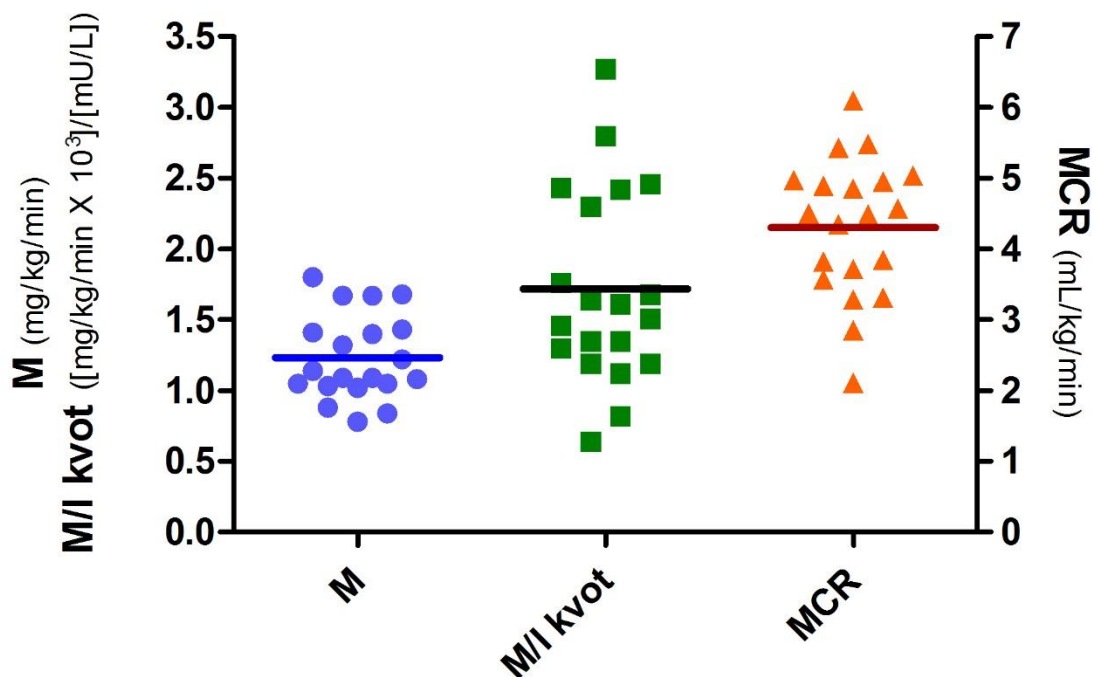
Tabell 2. Data från OGT_{fält} och OGT vid det kliniska försöket. Tabellen beskriver hästarnas insulinpeakvärde i fält, insulinpeakvärde under OGT vid kliniskt försök, och tid till insulinpeakvärdet i OGT vid kliniskt försök

Häst	Insulinpeak OGT fält	Insulinpeak OGT försök	Tid (min) till insulinpeak OGT försök
B	1400	1321	60
C	1989	405	60
D	1584	1732	90
E	> 3000	1274	120
F	2200	1478	90
G	1668	1987	90
H	2400	4187	90
J	> 3000	5070	120
K	2200	1923	60
L	> 3000	2565	90
M	1342	1640	150
N	954	699	60
P	1458	1592	60
S	1240	1144	60
T	2596	1201	90
U	> 3000	1625	120
V	1722	2925	90
X	2240	1022	120
Y	1546	1076	120
Z	>3000	3242	90

Hästarna hade en AUC_{ins} mellan 45105 och 606591 ng/l/min med en median på 191649 (147386-295187) ng/l/min under OGT i det kliniska försöket. Hästarna hade en AUC_{glukos} mellan 1035 och 1454 mmol/l/min med ett medelvärde på $1273,4 \pm 135,4$ mmol/l/min.

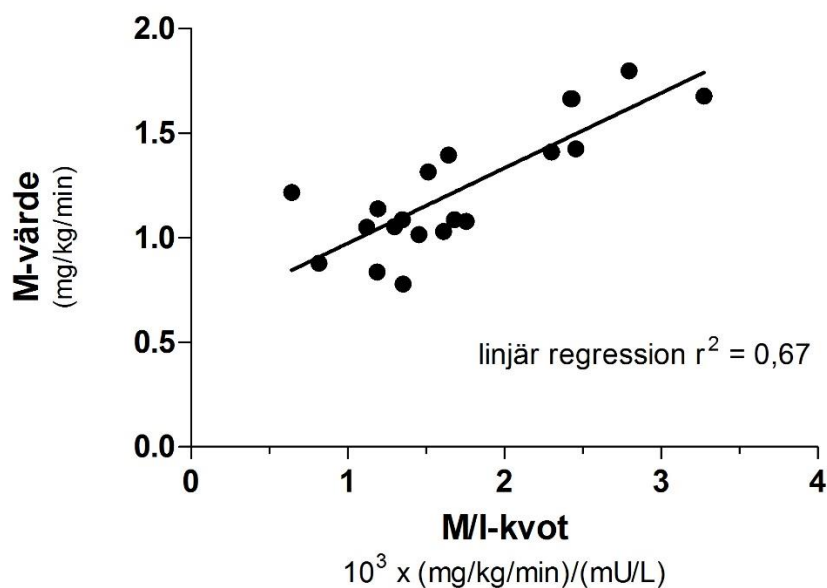
EHC

Hästarnas M-värden låg mellan 0,8 mg/kg/min och 1,8 mg/kg/min med ett medelvärde på $1,2 \pm 0,3$ mg/kg/min. Samtliga av dessa hästar klassificeras därmed som insulinresistenta enligt våra referensvärden där < 2 mg/kg/min klassificerades som insulinresistens. M/I kvoten beräknades och låg mellan 0,6 till 3,3 ($[\text{mg/kg/min} \times 10^{-3}] / [\text{mU/l}]$) för samtliga hästar med ett medelvärde på $1,7 \pm 0,7$ ($[\text{mg/kg/min} \times 10^{-3}] / [\text{mU/l}]$). Hästarna hade en MCR mellan 2,1 och 6,1 ml/kg/min med ett medelvärde på $4,3 \pm 1,0$ ml/kg/min (figur 4).



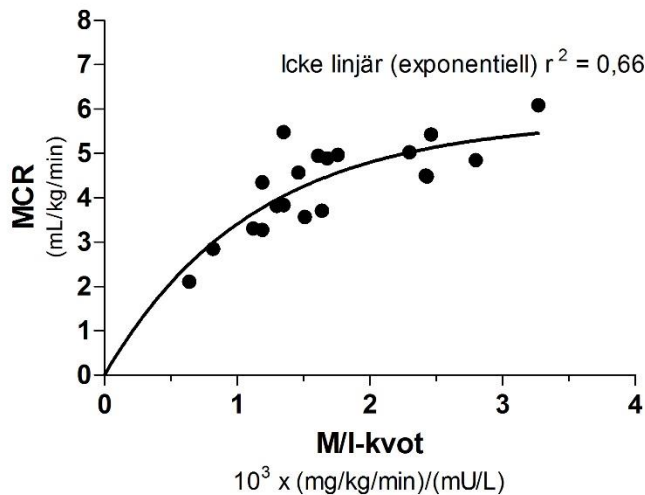
Figur 4: M-värdet, M/I kvoten och MCR-värdet för varje häst. Medelvärdet för M-värdena var $1,2 \pm 0,3$ mg/kg/min och representeras av den blå linjen. Medelvärdet för M/I kvoten var $1,7 \pm 0,7$ ([mg/kg/min $\times 10^3$]/[mU/l]) och representeras av den svarta linjen. Medelvärdet för MCR var $4,3 \pm 1,0$ ml/kg/min och representeras av den röda linjen.

Ett linjärt samband sågs mellan M-värdet och M/I kvoten med $r^2 = 0,67$ ($p < 0,0001$) (figur 5). De olika sätten att kvantifiera insulinkänsligheten med EHC (M och M/I-kvot) korrelerar därför väl: ju högre M/I kvot som hästen har desto högre M-värde har hästen.



Figur 5: Linjär regressionsanalys mellan M-värdet och M/I kvoten.

Ett icke linjärt samband kunde ses mellan M/I kvoten och MCR. Sambandet var exponentiellt med $r^2 = 0,66$ ($p < 0,0001$) (figur 6).

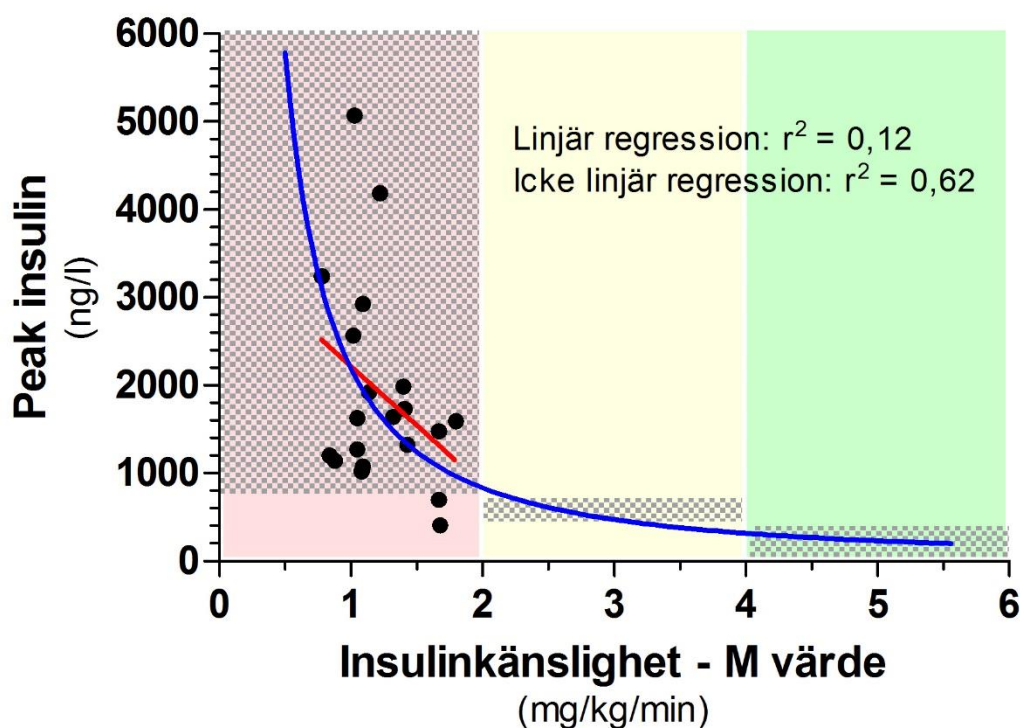


Figur 6: Samband mellan MCR och M/I kvoten.

Överensstämmelse av resultat för klassificering av insulinresistens mellan EHC och OGT

Häst C och häst N definierades som insulinresistenta under OGT_{fält}. Under OGT i det kliniska försöket med insulinpeakvärden på 405 ng/l och 699 ng/l omklassificerades hästarna till att vara intermediärt insulinresistenta. Vid EHC kunde man dock konstatera att båda hästarna var insulinresistenta, då både häst C (M-värde = 1,7 mg/kg/min) och häst N (M-värde = 1,7 mg/kg/min) hade M-värden $< 2 \text{ mg/kg/min}$. OGT i det kliniska försöket misslyckades därför att identifiera två av 20 individer som insulinresistenta. Övriga hästar klassificerades som insulinresistenta både av OGT_{fält}, OGT i det kliniska försöket och EHC.

Ett hyperbolt samband mellan insulinpeakvärdet under OGT i det kliniska försöket och insulinkänsligheten i form av M-värdet kan ses (figur 7). Insulinpeakvärdet vid OGT korrelerar därför väl med M-värdet från EHC i ett hyperbolt samband ($p < 0,001$; $r^2 = 0,62$) men inte i ett linjärt samband ($p = 0,06$; $r^2 = 0,12$).



Figur 7: Samband mellan insulinpeakvärdet från OGT i det kliniska försöket och M-värdet. Rosa fält avser hästar med M-värdet <2mg/kg/min (insulinresistent), gult fält hästar med M-värden mellan 2 och 4mg/kg/min (intermediärt insulinresistent) och grönt fält hästar med M-värden över 4 mg/kg/min (insulinkänsliga). Skuggade fält i respektive färgfält avser placering av data från OGT för att de ska motsvara klassificering av insulinkänsligheten enligt: insulinresistens >700ng/l, intermediär insulinresistens 400 – 700 ng/l och insulinkänsliga <400ng/l. Den blå linjen visar den icke linjära regressionen ($p < 0,001$; $r^2=0,62$) för ett hyperbolt samband och den röda linjen representerar en linjär regression ($p = 0,06$; $r^2=0,12$).

Multivariat regressionsanalys

Inga signifikanta associationer kunde hittas genom den stegvisa multivariata regressionsanalysen mellan M/I kvoten och någon av parametrarna, BCS, CNS, kön, ålder, och ras uppdelat i tre kategorier (ponny, islandshäst, häst).

DISKUSSION

Flera studier beskriver att hästar som kliniskt drabbas av EMS är medelålders hästar. Olika artiklar tar upp olika åldersintervall såsom ACVIM konsensus med 5 till 15 år (Frank *et al.*, 2010) eller artikeln av Johnson (2012), som anger åldersintervallet till mellan 8 och 18 år. I vår studie stäckte sig hästarnas ålder mellan 5 till 22 år med ett medelvärde på $13,9 \pm 3,6$ år. Fem hästar var över 15 år vilket motsvarar 25% av vårt material, varför detta tyder på att ACVIM konsensus om EMS (Frank *et al.*, 2010) kan ha ett för snävt åldersintervall. Å andra sidan kan vår studies hästar ha haft kliniska symptom på EMS utan att detta uppmärksammats av djurägare, hovslagare eller veterinär. En unghäst (5 år gammal) med en redan välutvecklad insulinresistens är med i studien och har både mycket högt BCS, en förstorad mankam och har haft fång. Detta väcker ytterligare frågeställningar om patogenesen för EMS. Om sjukdomen är genetiskt predisponerad såsom flera studier beskriver (Johnson, 2002, Treiber *et al.*, 2006b, Frank, 2010), när och varför utvecklar sig sjukdomen? Varför utvecklar vissa hästar kliniska symptom vid 5 års ålder och andra vid 22 års ålder? Fler studier krävs för att fastställa vad i skötseln, hästens miljö eller utfodring som gör att en häst med anlag får kliniska symptom av EMS. Om dessa kan fastställas bör prevalensen för sjukdomen kunna minskas och stort lidande hos hästar undvikas.

Arton av hästarna var av ponnyras och endast två av hästras. Detta stödjer tidigare studier som visar att ponnyer är predisponerade för EMS (Johnson, 2002, Frank, 2009). Att 15 av 20 hästar var ston är svårförklarat då inga tidigare studier har visat en könspre disposition vad författaren vet. Det är möjligt att detta är en effekt av en för liten studiepopulation och att könsfördelningen hade varit mer jämn med ett större material.

Sexton av 20 hästar hade en historik av fång enligt djurägaren, vilket motsvarar 80% av hästarna i studien. Detta stödjer att hästar med EMS har en ökad risk för fång, som nämns i ett flertal artiklar (Frank *et al.*, 2010, McCue *et al.*, 2015, Morgan *et al.*, 2015a). Det är möjligt att de resterande 4 hästarna också har haft fång utan att detta har upptäckts av djurägaren. Johnson (2002) beskriver att djurägarna inte alltid har sett ändrat rörelsemönster hos hästar med EMS men att hovförändringar tyder på tidigare fånganfall. Han menar att smärtan vid fång hos hästar med EMS kan vara mild. Detta skulle potentiellt betyda att ett flertal hästar med EMS kan ha haft flera fånganfall utan att djurägarna upptäckt detta, varför det är mycket viktigt att veterinärer är uppmärksamma på hovförändringar som kan tyda på tidigare fång vid diagnostisering av EMS. I studien utfördes inte kontroller eller bilddiagnostik av hovarna, vilket eventuellt hade kunnat vara av ytterligare värde för att bedöma tidigare anfall av fång.

Av hästarna i vår studie ansågs 4 vara normalviktiga, 6 ansågs något överviktiga och 10 var feta. Hälften av hästarna klassificerades därför inte som feta, vilket skiljer sig från den allmänt utbredda bilden av att en häst med EMS alltid skall vara fet. Resultat från denna studie talar därför för att hästar med EMS i själva verket inte behöver vara feta, utan till och med kan vara normalviktiga. Detta stödjer nyare hypoteser (McCue *et al.*, 2015), som ifrågasätter förekomsten av fetma inom fenotypbeskrivningen av EMS. Det är därför möjligt att fetman har haft en alltför central roll i sjukdomsbeskrivningen av EMS och att fenotypbeskrivningen av sjukdomen nu bör uppdateras. Vår studie stödjer de nya rönen om att fetman i sig inte orsakar minskad insulinkänslighet, utan att fetman istället skulle kunna vara en sekundär effekt av insulinresistens.

Ingen av patienthästarna i studien kunde dock definieras som smal enligt Hennekes skala (Henneke *et al.*, 1983). Fetma är en viktig välfärdssjukdom och ett ökande problem hos hästpopulationen precis som hos människor. Den utbredda bilden av att hästar med EMS är feta leder sannolikt till att få hästar i normalhull och hästar i ett hull som bedöms som under medelgott kommer att testas för EMS och därför aldrig får en diagnos. Det krävs fler studier för att fastställa om även smala hästar kan utveckla EMS.

I studien ansågs 3 hästar ha en normal mankam medan 17 av hästarna hade en förstorad mankam. Åttiofem procent av hästarna hade därför en förstorad eller en mycket förstorad mankam. Detta indikerar att mankammens storlek är en mycket viktig del av fenotypen för hästar med EMS. Cresty neck score är därför sannolikt ett viktigare hjälpmedel än BCS i att kliniskt identifiera hästar med EMS och mer tyngd bör läggas på den förstorade mankammen i fenotypsbeskrivningarna av hästar med EMS.

Ingen signifikant korrelation finns mellan BCS och CNS i vårt material. Grad av förstoring av nacken eller av hullet verkar därför inte korrelera med grad av insulinkänslighet. Storleken på mankammen styrs därför inte av hästens hull bland våra patienthästar, vilket är mycket intressant då en allmänt utbredd uppfattning är att nacken blir större med ökat hull. Det är mer sannolikt att det kan finnas patofysiologiska faktorer i sjukdomskomplexet som påverkar nacken i större utsträckning än hullet. Mer studier krävs för att fastställa varför en "cresty neck" utvecklas och dess roll inom EMS.

Potentiella felkällor i hullbedömningarna är att både BCS och CNS är subjektiva mått och därför möjliggör en viss felbedömning. Denna har dock minimerats genom att det är samma veterinär som utfört samtliga hullbedömningar. En annan potentiell felkälla är att BCS har framtagits på Quarterhästar (Henneke *et al.*, 1983) varför man kan diskutera om denna verkligen kan appliceras på ponnyer. Inga andra liknande hullbedömningsskalor finns dock att tillgå varför BCS ofta används kliniskt och inom forskningen, som en generell bedömningsskala för hästens hull oavsett ras.

I dagsläget ordinerar hästar med EMS bantning och motion. Trots att evidens finns för att bantning med grovfoderdiet och motion ska förbättra insulinresistensen (Morgan *et al.*, 2015b) finns det idag inga studier om optimala foderrekommendationer eller motionsprogram för hästar med EMS. Hästarna rekommenderas att utfodras med grovfoder med ett NSC på under 10% av torrsubstansen (Frank *et al.*, 2010, Frank, 2011) men i själva verket saknar detta påstående delvis evidens då inga studier har gjorts för att fastställa vilken mängd NSC som är optimal för hästar med EMS. De generella råden som finns beskrivna (Frank *et al.*, 2010) föreslår utfodring med hö motsvarande 1,5 % av hästens idealvikt, vilket är en grov förenkling då grovfoder har stora variationer i näringsinnehållet. Det är inte möjligt att uttala generella råd av detta slag utan beräkning av foderstater baserad på grovfodersanalys bör istället rekommenderas.

Eftersom friska hästar får högre insulinssvar vid utfodring med foder som har högt NSC jämfört med foder som har lågt NSC (Borgia *et al.*, 2011) så rekommenderas hästar med EMS att utfodras med foder med så lågt NSC som möjligt. Oavsett mängd NSC i ett foder så kommer insulinnivåerna i blodet variera mycket under dagen om stora mängder foder ges vid enstaka utfodringar. Logiskt sätt så kommer hästar som utfodras utefter en individuellt uträknad

grovfodersbaserad bantningsfoderstat, där fodret har ett lågt innehåll av NSC och utfodringen är uppdelad på många mål om dagen, uppnå viktreduktion samtidigt som alltför höga postprandiella insulinsvar undviks. Studier krävs dock för att fastställa detta.

Samtliga hästar i studien hade genom ett OGT i fält klassificerats som insulinresistenta då deras insulinpeakvärde var över 700 ng/l. Vid OGT i det kliniska försöket avvek två av hästarna från detta resultat med värden på 405 ng/l och på 699 ng/l. Dessa hästar omklassificerades därför till intermediärt insulinresistenta baserad på OGT utförd på kliniken. Flera potentiella felkällor kan nämnas här. Det finns en variation i till exempel magsäckstömningen, i absorptionen av glukos från tunntarmen samt i upptaget av glukos i levern som kommer påverka både insulin och glukossvaret (Kronfeld *et al.*, 2005). I OGT i fält uppskattades hästarnas vikt av djurägaren, varför mängden glykossirap kan ha varit både under- och överdimensionerad. Andra tänkbara felkällor är att tiden mellan OGT i fält och OGT i det kliniska försöket varierar mellan hästarna (från 1 vecka till flera månader). Efter en EMS diagnos kan djurägarna därför ha bantat deras hästar varför insulinkänsligheten kan ha förbättrats. Vidare är reproducerbarheten av OGT inte helt perfekt, varför viss variation kan uppstå mellan upprepade tester (Askerfelt, 2015). Under EHC:n kunde man dock genom M-värden se att samtliga hästar i studien var insulinresistenta, varför två av hästar felaktigt klassificerades som intermediärt insulinresistenta av OGT i det kliniska försöket. Ett hyperbolt samband hittades mellan insulinpeakvärdet i det kliniska försöket och insulinkänsligheten. Insulinpeakvärdet (OGT) är inte ett mått på insulinresistensen *per se* utan snarare ett index över insulinresponsen som svar på en standardiserad glukosgiva, dvs en uppskattning av betacellsresponsen. Intressant är att trots att data saknas både från intermediärt insulinresistenta hästar samt insulinkänsliga hästar kan den hyperbola kurvan dras ut åt höger i diagrammet (figur 7) varvid kurvan kommer att passera på rätt nivå genom klassificeringsfälten för intermediär insulinresistens och normal insulinkänslighet. Vid jämförelse med data från Moa Berggrens studie (2014) kan en liknande kurva ses för hästar som är insulinkänsliga och intermediärt insulinresistenta. Tillsammans tyder dessa data på att sambandet mellan insulinpeakvärdet för OGT testet och en hästs kvantifierade insulinkänslighet är hyperbolt.

Det hyperbola sambandet mellan index för betacellsrespons och insulinkänslighet finns tidigare beskrivet hos människa och visar på det dynamiska förlopp som finns mellan insulinresistens och kompensationsmekanismen vid insulinresistens i form av ett ökat betacellsvar (Bergman *et al.*, 2002). Genom att studera den hyperbola kurvan kan man konstatera att även en liten förbättring av insulinkänsligheten skulle ha en stor påverkan på hästens insulinrespons då hästen befinner sig i det röda fältet för insulinresistens (figur 7). Detta innebär att ändringar i management som innebär små förbättringar i insulinkänsligheten kan minska EMS patientens insulinrespons avsevärt. Med hjälp av OGT skulle dessa hästar därför kunna följas för att utvärdera resultaten av förändringar i motion, bantning och foderstatsåtgärder.

Relativt liten spridning hittades mellan hästarnas AUC_{glu} värden, vilka representerar blodglukosresponsen efter en standardiserad sockergiva. Sannolikt beror detta på att blodglukoskoncentrationen fortfarande kan regleras eftersom hästarna har en kompenserad

insulinrespons (Frank, 2010). Stor spridning bland insulinpeakvärdena från både OGT_{fält} och OGT vid den kliniska studien kunde ses, vilket är relaterat till variationer i hästarnas betacellsrespons. I dagsläget vet vi inte om graden av insulinresistensen har en påverkan på utvecklingen av kliniska symptom såsom fång eller vilka postprandiella insulinnivåer som kan inducera fång. Inte heller har man kunnat fastställa vilken nivå av insulinresistens som i så fall ger kliniska symptom. Tidigare studier har visat att kliniskt friska hästar kan vara intermediärt insulinresistenta (Berggren, 2014). Vid vilken nivå och av vilka anledningar går dessa hästar över från klinisk friska till att få kliniska symptom? Det orala glukostolerans testet i Berggrens studie (2014) diagnosticerade flera intermediärt insulinresistenta hästar, vilket tyder på att OGT skulle kunna hjälpa oss att fång upp hästar på väg in i insulinresistens om vi kan identifiera dessa riskhästar med en bättre fenotypsbeskrivning för EMS.

En av de viktigaste kompensationsmekanismerna vid insulinresistens är ökad frisättning av insulin från pankreas betaceller vid en intravenös eller per oral glukosgiva. Insulinresistens kan också kompenseras genom att minska nedbrytningen av insulin i levern. Ett icke linjärt samband sågs mellan M/I kvoten och MCR. Först när insulinkänsligheten var riktigt låg ökade minskningen av insulin clearance (MCR) mer än tidigare. Kompensationen med den minskade nedbrytningen av insulin ökade därför allt kraftigare för de hästarna som var mycket insulinresistenta.

Flera försök att hitta signifikanta samband med hjälp av multivariata regressionsanalyser mellan olika variablerna i studien utfördes men misslyckades. Raserna fick delas upp i tre kategorier (ponny, islandshäst, häst) då statistikprogrammet visade på överanpassning (engelska: *overfitting*) mellan variablerna. Detta tros bero på att modellen innehöll för många parametrar i förhållande till antal observationer. I vår studie kunde varken BCS, CNS, ras (uppdelat enligt ovan), kön eller ålder signifikant förklara M/I-kvot eller M-värdet. Insulinresistensen var därför inte signifikant kopplat till varken hull eller nackstorlek. Detta betyder att man inte kan förutspå graden av hästens insulinresistens genom att enbart visuellt bedöma en häst med EMS utifrån hästens CNS och BCS. Hästen med den största nacken är därför nödvändigtvis inte hästen med den mest uttalade insulinresistensen. Den här studien innehåller ett begränsat antal individer och resultaten måste därför beläggas i en större studie.

KONKLUSION

Studien visar att hälften av hästarna med insulinresistens var feta, medan andra hälften ansågs som normalviktiga eller något överviktiga. Detta talar för att fenotypsbeskrivningen av hästar med EMS bör uppdateras då alltför många studier tyder på att fetma inte längre kan anses som en central markör för sjukdomen. Den stora spridningen i ålder, som fanns i studien, tyder på att åldersintervall inte heller kan ge en ledtråd om vilka individer som är i riskzonen att utveckla EMS. Hur ska vi kliniskt kunna fånga upp dessa hästar när fenotypen är otydlig? Alltmer tyder på att mankammens storlek har en mer central roll i fenotypen för hästar med EMS. Åttiofem procent av hästarna i studien hade en förstorad eller en mycket förstorad mankam. Mer studier krävs för att fastställa mankammens roll samt för att hitta andra markörer för sjukdomen.

REFERENSER

- ASKERFELT, I. (2014). Reproducibilitet hos oralt glukostoleranstest för diagnostisering av insulinresistens hos häst. Uppsala. Sveriges Lantbruksuniversitet. Examensarbete inom institutionen för Kliniska Vetenskaper.
- ASPLIN, K. E., SILLENCE, M. N., POLLITT, C. C. & MCGOWAN, C. M. 2007. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Vet J*, 174, 530-5
- BAILEY, S. R., HABERSHON-BUTCHER, J. L., RANSOM, K. J., ELLIOTT, J. & MENZIES-GOW, N. J. 2008. Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *Am J Vet Res*, 69, 122-9.
- BERGGREN, M. (2014). Utvärdering av oralt glukostoleranstest för diagnostisering av insulinresistens hos häst. Uppsala. Sveriges Lantbruksuniversitet. Examensarbete inom institutionen för Kliniska Vetenskaper.
- BERGMAN, R.N., ADER, M., Huecking, K. & VAN CITTERS, G. (2002) Accurate Assessment of Beta-Cell Function, The Hyperbolic Correction. *Diabetes*, 51 (suppl.1), pp.8212-8220.
- BORGIA, L., VALBERG, S., MCCUE, M., WATTS, K. & PAGAN, J. 2011. Glycaemic and insulinaemic responses to feeding hay with different non-structural carbohydrate content in control and polysaccharide storage myopathy-affected horses. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 95, 798-807.
- CARTER, R. A., GEOR, R. J., BURTON STANIAR, W., CUBITT, T. A. & HARRIS, P. A. 2009b. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *Vet J*, 179, 204-10.
- CARTER, R. A., TREIBER, K. H., GEOR, R. J., DOUGLASS, L. & HARRIS, P. A. 2009a. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Vet J*, 41, 171-8.
- COFFMAN, J. R. & COLLES, C. M. 1983. Insulin tolerance in laminitic ponies. *Can J Comp Med*, 47, 347-51.
- DEFRONZO, R. A., TOBIN, J. D. & ANDRES, R. 1979. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*, 237, E214-23.
- DUGDALE, A. H., CURTIS, G. C., CRIPPS, P., HARRIS, P. A. & ARGO, C. M. 2010. Effect of dietary restriction on body condition, composition and welfare of overweight and obese pony mares. *Equine Vet J*, 42, 600-10.

- FIRSHMAN, A. M., VALBERG, S. J., BAIRD, J. D., HUNT, L. & DIMAURO, S. 2008. Insulin sensitivity in Belgian horses with polysaccharide storage myopathy. *Am J Vet Res*, 69, 818-23.
- FRANK, N. 2009. Equine Metabolic Syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29, 259-267.
- FRANK, N. (2010). Insulin resistance and Equine metabolic syndrome. In: REED, S.M., BAYLY, W. M., SELLON, D.C. *Equine internal medicine*. 3rd edition. St. Louis, MO: Saunders Elsevier, pp 1270-1277.
- FRANK, N. 2011. Equine Metabolic Syndrome. *The Veterinary Clinics of North America Equine practice*, 27 (1), pp.73–92.
- FRANK, N., GEOR, R. J., BAILEY, S. R., DURHAM, A. E. & JOHNSON, P. J. 2010. Equine Metabolic Syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 467-475.
- FREESTONE JF, BEADLE R, SHOEMAKER K., et al. 1992. Improved insulin sensitivity in hyperinsulinaemic ponies through physical conditioning and controlled feed intake. *Equine Vet J* 1992;24:187–90.
- HENNEKE, D. R., POTTER, G. D., KREIDER, J. L. & YEATES, B. F. 1983. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet J*, 15, 371-2.
- JEFFCOTT, L. B., FIELD, J. R., MCLEAN, J. G. & O'DEA, K. 1986. Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and Standardbred horses. *Equine Vet J*, 18, 97-101.
- JOHNSON, P. J. 2002. The equine metabolic syndrome peripheral Cushing's syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 18, 271-93.
- KARIKOSKI, N.P., HORN, I., MCGOWAN, T.W. & MCGOWAN, C.M. (2011). The Prevalence of Endocrinopathic Laminitis Among Horses Presented for Laminitis at a First-opinion/Referral Equine Hospital. *Domestic Animal Endocrinology*, 41 (3), pp. 111–117.
- KRONFELD, D. S., TREIBER, K. H. & GEOR, R. J. 2005. Comparison of nonspecific indications and quantitative methods for the assessment of insulin resistance in horses and ponies. *J Am Vet Med Assoc*, 226, 712-9.
- LINDÅSE, S., NOSTELL, K., BRÖJER. 2015. A modified oral sugar test for evaluation of insulin and glucose dynamics in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. In press.
- MCCUE, M. E., GEOR, R. J. & SCHULTZ, N. 2015. Equine Metabolic Syndrome: A Complex Disease Influenced by Genetics and the Environment. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35, 367-375.
- MORGAN, R., KEEN, J. & MCGOWAN, C. 2015a. Equine metabolic syndrome. *Vet Rec*, 177, 173-9.

- MORGAN, R. A., KEEN, J. A. & MCGOWAN, C. M. 2015b. Treatment of equine metabolic syndrome: a clinical case series. *Equine Vet J*.
- MÜLLER, C.E., NOSTELL, K., BRÖJER, J. 2015a. Methods for reduction of water soluble carbohydrate content in grass forages for horses. *Livestock Science*.
- MÜLLER, C.E., NOSTELL, K., BRÖJER, J. 2015b. Microbial counts in forages for horses- effect of storage time and water doaking before feeding. *Journal of Equine Veterinary Science*, 35, 622-627.
- SHCHUVER, A., FRANK, N., CHAMEROY., K.A., ELLIOTT, S.B 2013. Assessment of Insulin and Glucose Dynamics by Using an Oral Sugar Test in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. Available at:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073708061300590X>
- SJAASTAD, O.V., HOVE, K. & SAND, O. (2003). Physiology of Domestic Animals. 1 ed. Scandinavian Veterinary Press, Oslo
- TREIBER, K. H., KRONFELD, D. S. & GEOR, R. J. 2006a. Insulin resistance in equids: possible role in laminitis. *J Nutr*, 136, 2094S-2098S.
- TREIBER, K. H., KRONFELD, D. S., HESS, T. M., BYRD, B. M., SPLAN, R. K. & STANIAR, W. B. 2006b. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *J Am Vet Med Assoc*, 228, 1538-45.
-